

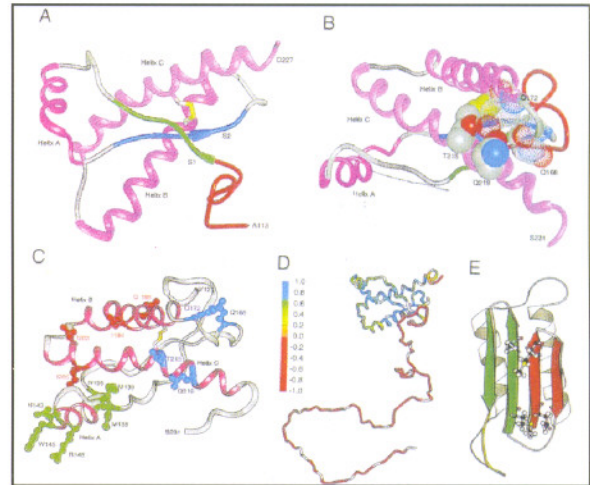
## Priones

*Benites Castillo, Santiago*

Docente Universidad César Vallejo. Escuela de Medicina  
Docente Escuela post grado. UNT.

Según investigaciones realizadas se ha descubierto un agente infeccioso responsable de producir enfermedades neurodegenerativas en los mamíferos, al que los investigadores han denominado PRION. Este término deriva de "proteinaceous infectious particle", definición propuesta por Stanley B. Prusiner. Este agente infeccioso consiste únicamente en una proteína, carente de genoma y de ácidos nucleicos. Esta proteína infecciosa se puede encontrar en las membranas neuronales sin causar enfermedad alguna, pero si hay un cambio conformacional de su estructura terciaria puede provocar la aparición de la e n f e r m e d a d .

Estas proteínas en su forma patógena se multiplican exponencialmente al ponerse en contacto con las proteínas normales, ya que les inducen el cambio conformacional que las vuelve infecciosas. La aparición de estos desordenes estructurales en las proteínas, pueden ser transmisibles, heredados, o incluso esporádicos, es decir, sin evidencias de transmisión ni herencia. Las enfermedades producidas por los priones llamadas también encefalopatías espongiformes transmisible, son fatales, afectan al sistema nervioso y se ha demostrado que también a los músculos. Estos agentes infecciosos, se caracterizan porque son filtrables con poros de 25 a 100 nm, son invisibles al microscopio óptico y electrónico, resiste al formaldehído, proteasas y EDTA, resiste a la radiación UV y a la radiación ionizante. Poseen un periodo de incubación prolongado que puede durar meses a años. Producen una patología crónica progresiva la que es fatal en todos los casos, no produce respuesta inflamatoria y carecen de cuerpos de inclusión celular, el hidróxido de sodio 2N lo inactiva, así como el



éter, formol y el permanganato de potasio 0.002 M; también lo inactiva el cloroformo y la urea 6M. Prusiner, resume que solo los procedimientos que hidrolizan o afectan a proteínas logran modificar la intensidad de la infección.

A pesar de los grandes esfuerzos realizados por los investigadores, para encontrar el material genético de este agente infeccioso, solo pequeños fragmentos de menos de 100 nucleótidos han permanecido después de los procesos de purificación (Meyer 1991), sospechándose que pueda ser únicamente material contaminante. De tal manera también se desestimaron los carbohidratos y lípidos como elementos infecciosos. La función de esta proteína fue estudiada por Suchiro Sakaguchi, de la Universidad de Nagasaki. Se crearon ratones homocigotos respecto a la falta del gen PRNP, que codifica para la isoforma normal del prion (PrP<sup>c</sup>). Estos ratones fueron normales hasta las 70 semanas de vida, luego comenzaron a manifestar importante pérdida de coordinación, temblores al andar, incapacidad de mantener una trayectoria; a

las 90 semanas, incapacidad de mantenerse y movimientos espasmódicos en sus patas traseras, muchos de ellos tenían la columna vertebral arqueada con una convexidad hacia atrás. Ellos demostraron que, el cerebelo se había encogido hasta un tercio respecto al de los ratones normales, y había una grave deficiencia de las células de Purkinje.

Al inocular los ratones nulos para el gen PRNP con una partícula prion infecciosa (PrPSc), no desarrollaban la enfermedad (Belser 1992) y no se detectaron evidencias de replicación del PrPSc. De esto se dedujo que, para causar la enfermedad era necesaria la presencia del tándem PrPc-PrPSc. Este experimento parecía esclarecer un poco la función de la proteína prion, ya que la ausencia tiene ciertas consecuencias concretas en el individuo. Sin embargo, posteriormente se han creado nuevamente modelos de ratón carente del gen PRNP que han crecido y se han desarrollado de una manera normal, con algunas excepciones de ataxia y alteración del ritmo circadiano más allá de los dos años de edad (Belser 1992, Tobler 1996, Prusiner 1998).

### **Hipótesis virales.**

A pesar de que no se han encontrado pruebas concluyentes de la existencia de ácidos nucleicos asociados con el prion, algunos investigadores creen que los priones se forman cuando la proteína prion se asocia con un ácido nucleico patógeno extraño. Gajdusek y cols. apuestan por la teoría vírica, ya que los viroides han demostrado resistencia a la radiación ultravioleta de 254 nm, al igual que la partícula PrP, que pese a mantener su carácter infeccioso a temperaturas superiores que lo agentes infecciosos convencionales, observó que eran rápidamente inactivados al sobrepasar los 85°C. C. Weissmann por su parte, propone que el agente está formado por dos componentes:

? El PrPSc (apoprion), que puede causar enfermedades transmisibles incluso libre de ácidos nucleicos.

? Un ácido nucleico (coprion), del cual pueden existir muchas variantes. Es el que determina las propiedades fenotípicas que definen el linaje del agente infeccioso

Ambas partes constituyen lo que él denominó holoprion. Manuelidis, de la Universidad de Yale afirma que existen virus que disponen de un sistema de reparación del material genético que les permite resistir radiaciones similares a las que resiste el PrPSc; que escapan al sistema inmunitario instalándose en el interior de las células.

L. Manuelidis hace especial hincapie en varias características de los agentes infecciosos, a saber:

? La existencia de distintas cepas que causan diferentes patrones de enfermedad. Solo pueden aparecer representados en diferentes linajes o razas, aquellos patógenos que poseen ácidos nucleicos.

? Su multiplicación exponencial.

? Su tiempo de latencia prolongado.

? Infección del sistema retículo-endotelial ( bazo, glóbulos blancos ).

La evidencia de que la enfermedad nvCJD procedía de la epidemia de las vacas locas (BSE) constituyó otro argumento a favor, ya que la transmisión por vía oral pone muy difícil la resistencia de un agente puramente proteico a la acidez y las enzimas del aparato digestivo. En cambio, muchos virus sí son capaces de sobrevivir a estas condiciones.

Mutaciones y polimorfismos del gen PRNP podrían inducir mayor susceptibilidad del huésped frente a ciertas cepas del agente infeccioso.

### **La enfermedad y la herencia:**

Alrededor del 15% de las demencias por priones son heredadas o tiene agregación familiar. El patrón de transmisión de las enfermedades prion familiares (o heredadas), se reconoce como autosómico y dominante. Inicialmente se asociaron tres enfermedades con mutaciones en el gen PRNP:

? La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar (fCJD).

? El síndrome de Gerstmann-Stréessler-Scheinker (GSS).

? El insomnio fatal familiar (IFF).

Posteriormente se han asociado significativamente hasta 13 mutaciones del PRNP con el desarrollo de la enfermedad (Prusiner 1994). La fCJD, se ha asociado una mutación en el codon 129 del gen PRNP que cambia metionina por valina y, según los polimorfismos del gen, predispone para unos síntomas u otros. El GSS está asociado a una mutación en el codon 102 que cambia leucina por prolina, aunque se han asociado al menos tres mutaciones más. El IFF se asocia a la mutación puntual en el codon 178 que cambia el ácido aspártico por la asparragina. Igualmente se ha demostrado la conexión genética con otras 4 mutaciones p.ej: fCJC (E200K); las mutaciones artificiales A113V, A115V y A118V inducen al plegamiento de la proteína PrPc y a la producción de la enfermedad. Lo que demuestra la relevancia del aminoácido Val en el mantenimiento de la estructura de la PrPc.

#### La infección.

Se distinguen 3 orígenes de infección:

1. iatrogénico, heredado y la mutación espontánea. Son las tres formas de aparición
2. de la primera partícula infecciosa: procedencia
3. externa, mutación heredada del gen PrP y mutación esporádica de dicho gen. La multiplicación del agente infeccioso es exponencial. La isoforma patógena es captada por fagocitosis en neuronas o glia, y transportada al lisosoma para su degradación, en el lisosoma se produce contacto entre PrPSc y PrPc y la primera induce el plegamiento de la segunda. Las PrPSc (el núcleo 27-30 KDa) son relativamente resistentes a las proteasas y se acumulan, los lisosomas revientan cuando se supera un determinado volumen, liberando al citosol las PrPSc y proteínas hidrolíticas que contenían. Las proteínas hidrolíticas degradan la célula, las PrPSc (en su forma 27-30) quedan libres en el espacio extracelular, se agregan y forman placas amiloides. El proceso se repite en las células adyacentes, creando agujeros en el tejido cerebral. Por otro lado, algunas evidencias indican que el mecanismo de

muerte neuronal en enfermedades prion podría ser la apoptosis. Otra teoría que trata de explicar el desarrollo de la patología, es la Teoría Cristalina, basada en que la PrPSc forma estructuras cristalinas muy insolubles, que pueden ser inducidas en cualquier momento del ciclo de la PrPc.

Estas enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por una tríada patológica:

? Vacuolización o espongirosis, en el citoplasma de neuronas y células gliales. En las enfermedades de Alzheimer o Huntington, la vacuolización es en el espacio extracelular como resultado de la pérdida de neuronas.

? Reacción glial o gliosis (crecimiento exagerado de las células gliales) en ausencia de cambios inflamatorios.

? Pérdida de neuronas.

Se observan depósitos amiloides de PrPSc 27-30 en forma de placas, llamados placas amiloides, que se tiñen positivas para la PrP (al contrario de las placas presentes en el Alzheimer). Tienen afinidad por la eosina, rojo congo. Presentes sobretudo a nivel del cerebelo y, minoritariamente, a nivel del tálamo, ganglios basales y corteza cerebral. Son un buen indicador de la infección, pero aparentemente no son causa importante de la enfermedad. Estudios ultraestructurales han demostrado una relación de la microglia con la formación de estas placas.

Los priones pueden ser transmitidos de un ser vivo a otro, enfermedades de origen iatrogénico (enfermedad del Kuru, CJD iatrogénico) de forma comprobada inoculándolos directamente al cerebro, la piel o el tejido muscular; y también a través de la alimentación (nvCJD, que es un tipo de iatrogénica).

La transmisión interespecífica de una enfermedad prion depende de que el prion patógeno del donante sea suficientemente similar a la proteína prion huésped como para poder unirse a ella e inducirle el plegamiento. La identidad en el segmento 96-167 es necesaria pero insuficiente, cuanto mayor sea más eficaz será la interacción de PrPSc con PrPc (Scott y cols., 1993; McKenzie y Marsh, 1996; Telling y cols., 1995). El grado de compatibilidad de ambas proteínas determina el tiempo de incubación de la enfermedad (meses, años, décadas).

En la tabla siguiente se enumeran las enfermedades prion conocidas hasta ahora y alguna información nomenclatural referente a ellas:

Enfermedad	Huésped natural	Prion	Forma PrP anormal	Forma PrP celular
Scrapie	Ovejas y cabras	Scrapie	ShePrPScç	ShePrPSc <sup>o</sup>
Prionencefalopatía transmisible del visón (TME)	Visón	prion TME	MkPrPSc	MkPrPTME
Chronic wasting disease (CWD)	Mulos, ciervos y Alces	prion CWD	MdePrPSc	MDePrPCWD
Encefalopatía espongiforme bovina (BSE)	Vacas	prion BSE	BovPrPSc	BovPrPBSE
Encefalopatía espongiforme felina (FSE)	Gatos	prion FSE	FePrPSc	FePrPFSE
Encefalopatía de los ungulados Exóticos (EUE)	Nyala y el gran Kudu	prion EUE	NyaPrPSc	NyaPrPEUE
Kuru	Humanos	prion kuru	HuPrPSc	HuPrPKu
Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)	Humanos	prion CJD	HuPrPSc	HuPrPCJD
Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS)	Humanos	prion GSS	HuPrPSc	HuPrPGSS
Fatal familiar insomnia (FFI)	Humanos	prion FFI	HuPrPSc	HuPrPFFI

**Prevención y tratamiento.**

Actualmente es posible identificar las disfunciones neurológicas con mucha antelación, por lo que desarrollar un tratamiento para estas enfermedades es un imperativo, según Prusiner. Para el diagnóstico de una demencia por priones debe observarse un cuadro clínico, neuropatológico y bioquímico compatible con una demencia rápidamente progresiva. No deben existir alteraciones metabólicas, lesiones estructurales cerebrales, infecciones ni tumores que puedan ser responsables de la encefalopatía y el deterioro mental.

El diagnóstico definitivo depende del examen directo del tejido cerebral por medio de una biopsia; puede ser confirmado mediante tinción histoquímica con anticuerpos contra la PrPSc en las placas de amiloide, también mediante el enzimoimmunoensayo, comprobando la presencia de anticuerpos contra PrP en Western Blot (Haywood 1997; Castellani 1996 ). Aunque los anticuerpos no son específicos contra PrPc o PrPSc, el tratamiento con proteinasa K elimina la PrPc. La inmunohistoquímica puede detectar PrPc en secciones de tejido

embebido en parafina, fijado con formalina y tratando con 90-100% de ácido fórmico de secciones desparafinadas. Un estudio de Hirsch 1996, demuestra especificidad y sensibilidad global de la proteína 14-3-3 en el diagnóstico de la ECJ esporádica en un 96%. Esta proteína es neuronal, está presente en diversas especies y podría jugar un papel importante en la estabilización de proteínas cerebrales en general. La sensibilidad de este examen se mantiene solo en ausencia de lesiones cerebrales agudas o subagudas ocurridas en el mes anterior al examen. Estudios posteriores parecen no coincidir con esta alta sensibilidad (Zeidler 1997a, Concha 1998).

El análisis de la concentración en suero de la proteína S100, específica de cerebro, puede ser una valiosa herramienta en el diagnóstico diferencial de CJD, más fácil de realizar que los test en fluido cerebroespinal. Este método de diagnóstico tiene una sensibilidad del 77.8% y una especificidad del 81,1% para confirmar el CJD. (13).

La terapia de actuación más atractiva, es la que investiga como interferir la conversión de PrPc en PrPSc, estabilizando la estructura de la PrPc mediante la aplicación de un fármaco de unión. Falta por

determinar si una droga capaz de ligarse a la PrPc en la zona de unión de la proteína X, puede ser más eficaz que otra que imite la estructura de la PrPc con residuos polimórficos básicos que parecen ser capaces de prevenir el scrapie y la

enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Estos fármacos no precisan penetrar en el citosol de las células, aunque sí deben ser capaces de introducirse en el sistema nervioso central (SNC).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Suehiro Sakaguchi y Cols. Loss of cerebellar Purkinje cells in aged mice homozygous for a disrupted PrP gene. *Nature* vol. 380: 528-531 (11 Abril/96)
2. Prusiner S. y Cols. Ablation of the prion protein (PrP) gene in mice prevents scrapie and facilitates production of anti-PrP antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol.90, pp.10608-10612 (November 1993)
3. Mouillet-Richard, M. Ermonval, C. Chebassier, J.L. Laplanche, S. Lehman, J.M. Launay, O. Kellerman. Signal transduction through prion protein. *Science* vol. 289: 1925-1927. 2000.
4. Telling, G. Transmission of CJD disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 91, pp. 9936-9940 (1994)
5. Brown P. BSE and transmission through blood. *Lancet* 2000; 356: 955-9
6. Markus O. y cols. Diagnosis of CJD by measurement of S100 protein in serum: prospective case-control study. *B. Med. J.* 1998;316:577-582.
7. Gu, H. Fujioka et al. Prion peptide 106-126 modulates the aggregation of cellular prion protein and induces the synthesis of potentially neurotoxic transmembrane PrP. *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 277, No.3: 2275-2286 (2002).
8. O'Donovan, C. Prion protein fragment PrP 106-126 induces apoptosis via mitochondrial disruption in human neuronal SH-SY5Y cells. *The Journal of Biochemistry* Vol. 276, No.47, pp. 43516-43523 (2001).
9. Taylor S. Prion protein fragment 106-126 potentiates catecholamine secretion from PC-12 cells. *Am.J.Physiol.Cell.Physiol* 281: C1850-C1857 (2001).
10. Michael F. Jobling et al. Copper and zinc binding modulates the aggregation and neurotoxic properties of the prion peptide PrP 106-126. *Biochemistry*, 40: 8073-8084. 2001.
11. Supattapone S., Nguyen H., Cohen F.E., Prusiner S.B., Scott M.R. *PNAS USA*, 96: 14529-14534. 1999.
12. Carsten Korth, B.C.H. May, Fred E. Cohen y S.B Prusiner. Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *PNAS* vol 98 no. 17: 9836-9841. 2001.
13. [http://whyfiles.org/012mad\\_cow/3.html](http://whyfiles.org/012mad_cow/3.html)
14. [Http://www.mad-cow.org/~tom/prion\\_evol.html](http://www.mad-cow.org/~tom/prion_evol.html)
15. <http://www.sciam.com/askexpert/medicine/medicine14.html>
16. <http://www.hhmi.org/science/genetics/lindquist.htm>
17. <http://www-micro.msb.le.ac.uk/335/Prions.html>
18. [http://www.life.anu.edu.au/viruses/lctv/fs\\_prion.htm](http://www.life.anu.edu.au/viruses/lctv/fs_prion.htm)
19. <http://www.adecei.org.ar/educacion/priones.htm>
20. <http://neurologia.rediris.es/congreso-1/conferencias/priones>